

Smithsonian Tropical Research Institute

Minera Panamá

PROYECTO MINA DE COBRE PANAMÁ

ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL (EsIA)

CATEGORIA III

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO DE CONSERVACIÓN EX SITU DE ESPECIES DE INTÉRES DE ANFIBIOS

Compromisos de EsIA Aplicables	Período reportado	Elaborado por	Fecha de Emisión del Reporte
13202, 13207 13208, 13212 13221, 13223 13232, 13233	Noviembre 2021-Enero 2022	INSTITUTO SMITHSONIAN DE INVESTIGACIONES TROPICALES	2/8/2021

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO

“LA CONSERVACIÓN EX SITU DE RANAS DEL ÁREA DE DONOSO, RENOVACIÓN POR TRES AÑOS”

Período: Noviembre 2021-Enero 2022

Por: Roberto Ibáñez D., Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá, Smithsonian Tropical Research Institute (STRI)

Fecha: 8 de febrero de 2022

Introducción

El 1 de septiembre de 2019, Minera Panamá S.A. (MPSA) y el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) firmaron un acuerdo con el fin de extender el proyecto de conservación ex situ de anuros del área de Donoso por tres años. Con este acuerdo se continuarán los esfuerzos de conservación e investigación que contribuirán al manejo y preservación de los anfibios de Donoso, enfocándose en las especies de interés (EdI). Este proyecto es coordinado por el Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá (PARC), que lleva a cabo las actividades de conservación ex situ dentro de instalaciones del STRI, ubicadas en Gamboa, provincia de Colón. En este informe se presentan los avances, de acuerdo a los objetivos acordados de este proyecto, realizados durante el período Noviembre 2021-Enero 2022.

Durante este trimestre, a pesar de la drástica reducción en personal por aislamiento o contagio y a las limitaciones resultado de la pandemia causada por el COVID-19, nosotros continuamos brindándole el todo cuidado requerido a las poblaciones de anfibios que mantenemos en el programa de conservación ex situ en Gamboa; al mismo tiempo, evitando o minimizando el riesgo a la salud de nuestros colaboradores. Estas actividades se realizaron siguiendo las regulaciones y la autorización de las entidades de gobierno correspondientes y las medidas sanitarias indicadas por el STRI. No obstante, varias actividades adicionales han estado suspendidas; las cuales, no están directamente vinculadas al cuidado y reproducción de los animales, como aquellas relacionadas con trabajo de campo. Estas actividades se tendrán que planificar y reprogramar en el futuro, cuando las mismas se puedan realizar normalmente.

Objetivo 1. – Mantener la instalación para la cría y reproducción de poblaciones en cautividad de las especies de anfibios de interés de Donoso.

Con relación a nuestra inversión en la capacitación de personal especializado en cría de anfibios, hemos realizado actividades. Debido a que algunas restricciones relacionadas a la pandemia del COVID-19 se han mantenido flexibles durante este período, ha sido posible que estudiantes universitarios pudiesen continuar con sus investigaciones sobre técnicas de reproducción asistida en nuestras instalaciones y, así, completar sus trabajos de graduación. Además, la pasante Igli Arcia con estudios en medicina veterinaria, ha estado participando y apoyándonos en la aplicación de técnicas de reproducción asistida y criopreservación de esperma de las ranas. Sin embargo, aún no ha sido posible dedicarnos a la capacitación y participación de más personas, como voluntarios u otros pasantes, en estos meses.

Realizamos trabajos de mantenimiento y reparación de equipo en la instalación de Gamboa, principalmente relacionados al mantenimiento del generador eléctrico, los aires acondicionados y de la planta de tratamiento de aguas residuales; además, se reemplazaron tubos de luces UVB y blancas, temporizadores eléctricos y todos los filtros de agua en los contenedores. Continuamos utilizando al último contenedor para la reproducción de ranas, el cual aún requiere ser habilitado completamente. En enero, inició el trabajo de instalación del sistema de rociadores contraincendios en la pequeña edificación (de 150 m^2) para la producción de invertebrados. Se estima que la instalación del sistema de rociadores terminará a finales de febrero.

La producción de invertebrados ha continuado ininterrumpidamente en los salones temporales, ubicados en el área conocida como Santa Cruz. Continuamos produciendo grillos, dos especies de moscas de las frutas, colémbolos, larvas de polilla de despensa y polillas de cera (“waxworms”), lombrices de tierra, una especie de cucaracha, larvas de dos especies de escarabajos (“mealworms” y “superworms”), cochinillas y recolectando larvas de moscas soldado negro (familia Stratiomyidae) para alimentar a las poblaciones de anfibios en cautiverio. En estos meses, la producción de invertebrados sobrepasó el nivel requerido para alimentar a las ranas que mantenemos en Gamboa, lo cual es importante en caso de que ocurra alguna mortalidad inesperada de invertebrados y, aún así, poder cubrir las necesidades de alimentación de las ranas.

Los números de individuos de las poblaciones en cautiverio de las especies de anfibios del área de Donoso, que manteníamos al 31 de enero de 2022, en Gamboa eran:

Especie	Machos	Hembras	Juveniles	Total	Reproducción en cautiverio	Renacuajos
Andinobates geminisae	44	74	173	291	+	140
Atelopus varius	277	182	255	714	+	~800
Craugastor evanesco	17	18	0	35	-	-
Gastrotheca cornuta	6	1	0	7	-	-
Oophaga vicentei	36	39	38	113	+	~35
Total	**380**	**314**	**466**	**1160**		**~975**

Nota: *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta* no presentan etapa de larvaria o renacuajo libre.

Al 31 de enero de 2022, teníamos 1160 ranas de cinco especies de anuros del área de Donoso. Entre las especies, que se mantienen en cautiverio, están cinco Especies de Interés (EdI) del Proyecto Mina de Cobre Panamá: *Andinobates geminisae*, *Atelopus varius*, *Craugastor evanesco, Gastrotheca cornuta* y *Oophaga vicentei*. En diciembre de 2021, iniciamos la toma de muestras de piel ranas con hisopos para asegurarnos de que el hongo quitridio patógeno de anfibios no se encuentre dentro de nuestra instalación en Gamboa y, en caso de que sea detectado, tomar las medidas correspondientes.

Para las especies *Andinobates geminisae*, *Craugastor evanesco* y *Oophaga vicentei* han sido colectados suficientes individuos fundadores con el fin de iniciar la población ex situ. Sin embargo, aún es recomendable obtener más individuos de *Atelopus varius* (6-10 hembras de la

población en Nuevo Petaquilla) y *Gastrotheca cornuta* (14 machos y 19 hembras) para obtener una representatividad adecuada de su diversidad genética. La especie *G. cornuta* sido particularmente difícil de encontrar; por lo que, nos estaremos concentrando en la búsqueda de más individuos de esta especie. Esperamos reanudar expediciones en este año, con el fin de recolectar más fundadores de *G. cornuta*.

Durante este período, se mantuvieron 46 parejas de *Andinobates geminisae* en los tanques de reproducción, incluyendo parejas constituidas por individuos de la segunda generación filial (F2) nacidos en cautiverio. Entre estas parejas hubo varios eventos de reproducción. Resultado de estos eventos reproductivos, para el final del período, se tenían 140 renacuajos y 173 juveniles. Adicionalmente, mantuvimos 35 parejas de *Oophaga vicentei* durante este período. Hemos encontrado unos 35 renacuajos de *O. vicentei*, algunos entre las plantas bromelias al final de este período. Debido a que no es recomendable manipular las bromelias para evitar la interrupción del cuidado parental de los huevos y renacuajos, no podemos establecer si hay más de éstos entre las plantas. Continuamos con el tratamiento tópico de las hembras reproductoras de *O. vicentei* con gotas de gluconato de calcio y el uso de agua reconstituida de ósmosis inversa para criar a los renacuajos, con el propósito de reducir la aparición del síndrome de patas débiles (SLS) en los post-metamorfos. Síndrome que no les permite moverse con normalidad para alimentarse y, como consecuencia, mueren. En este período, no hubo post-metamorfos de *Oophaga vicentei* que presentasen el SLS. Se obtuvieron 38 juveniles sanos de *O. vicentei*, incluyendo juveniles que pertenecen a la segunda generación filial (F2) nacidos en cautiverio.

Se mantuvieron 18 parejas de adultos de *Craugastor evanesco* en tanques para su reproducción. En este período, se continuaron los ensayos con tratamientos hormonales en esta especie. Las masas de huevos de las dos parejas, reportadas en el informe de Octubre-Noviembre 2021, no se desarrollaron y algunos de los individuos tratados fallecieron posteriormente. Por lo que, se suspendieron temporalmente estos ensayos hasta que se establezcan las causas probables de las muertes de los individuos y se ajusten los protocolos del ensayo en caso requerido.



Puesta de huevos de una pareja de *Atelopus varius* en tanque de reproducción.

En el trimestre Noviembre-Enero, finalizó la salida de post-metamorfos de los tanques con renacuajos de las tres puestas de *Atelopus varius* reportadas en el trimestre antepasado (i.e., Mayo-Julio). Adicionalmente, durante Noviembre-Enero, se colocaron nueve parejas en tanques de reproducción, de las cuales una pareja se mantiene en abrazo nupcial (i.e., amplexus) y tres parejas depositaron huevos. Los huevos de dos parejas se han desarrollado y tenemos sus renacuajos. Al final del presente período, teníamos un total aproximado de 800 renacuajos, descendientes de las parejas de *A. varius* que fueron colocadas en los tanques de reproducción en este trimestre.

A finales de enero, en colaboración con la Dra. Gina Della Togna, se realizaron pruebas preliminares de fecundación *in vitro*, utilizando gametos de *Atelopus varius*. Se obtuvieron oocitos de 7 hembras estimuladas con hormonas y se utilizó orina espermática criopreservada y fresca obtenida de machos, también estimulados hormonalmente, para estas pruebas. Estamos a la espera de observar desarrollo en los huevos que fueron fecundados *in vitro*.

Como parte de los preparativos para un experimento en el laboratorio y un ensayo de liberación con *Atelopus varius*, hemos realizado cruces de individuos cuyo linaje proviene de poblaciones de tierras bajas (i.e., Donoso) con individuos de linaje proveniente de poblaciones de tierras altas. El número de individuos resultantes de los cruces para este experimento no se incluyen en el cuadro antes presentado. Durante Noviembre-Enero, finalizó la salida de post-metamorfos del cruce reportado en el informe anterior. En este período, se colocaron cuatro parejas en tanques de reproducción, de las cuales dos parejas se reprodujeron y tenemos renacuajos. Con este experimento y ensayo de liberación determinaremos si una mayor diversidad genética de los individuos confiere una mayor resistencia o tolerancia al hongo patógeno de anfibios, *Batrachochytrium dendrobatidis*.



Dra. Della Togna obteniendo orina espermática fresca de un macho de *Atelopus varius*, previamente estimulado con hormonas, para las pruebas de fecundación *in vitro*.

Además, se mantuvo a dos parejas de *Gastrotheca cornuta* en tanques para su reproducción, cuyas hembras están grávidas y se les ha estado alimentando de manera asistida; pero, todavía no se han reproducido, a pesar de que a los machos se les ha escuchado emitiendo llamados para atraer a las hembras. A través de estos intentos y eventos reproductivos, seguimos conformando paulatinamente poblaciones estables en cautiverio de las especies EdI de Donoso. En este sentido, para las especies que se han reproducido con mayor frecuencia, *Atelopus varius*, *Andinobates geminisae* y *Oophaga vicentei*, tenemos individuos fundadores (parentales) y descendientes de la primera generación filial (F1) y la segunda generación filial (F2) en las poblaciones de éstas en cautiverio. En el caso de *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta*, solamente se tienen parentales y descendientes F1.

Además, se ha continuado con la introducción de datos de los individuos de Donoso en la base de datos "Zoological Information Management System" (ZIMS) (http://www2.isis.org), lo cual facilita el manejo del inventario de animales, el control de la conformación genética y demográfica de las colecciones de animales vivos, la identificación de animales no relacionados para realizar cruces, el mantenimiento de un registro del estado de salud y el tratamiento que se le ha dado a cada individuo, entre otros.

Objetivo 2. – Continuar el trabajo para ensayos de liberación de anfibios en el área de Donoso.

En este trimestre, finalizamos el proyecto piloto para determinar el tipo de mesocosmo que es más adecuado para realizar ensayos de liberación de ranas, especialmente *Atelopus varius.* En el cual, se utilizaron individuos de la especie común *Rhinella alata* (familia Bufonidae), como especie sustituta por ser semejante en algunos aspectos (e.g., talla y comportamiento) a las especies del género *Atelopus*. En este proyecto piloto se compararon tres tipos de mesocosmos (con tres réplicas de cada uno) para contener a las ranas durante una liberación suave ("soft release") y éstas se mantuvieron a tres densidades (i.e., 1, 3 y 6 individuos). Este proyecto piloto se llevó a cabo dentro de un área boscosa de Gamboa, adyacente a las instalaciones del Proyecto PARC y contamos con la colaboración del Dr. Daniel Medina, quien ha estado asociado al Proyecto PARC desde sus inicios, y la Dra. Allison Byrne. Hemos decidido continuar con este piloto proyecto, pero ahora utilizando individuos de *A. varius* para asegurarnos sobre cuál es el tipo de mesocosmo más adecuado para esta especie. Estamos a la espera de la aprobación de la modificación al protocolo por parte el IACUC (i.e., Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales) del STRI, para darle continuidad a este proyecto piloto.

A finales de enero, nuestro colaborador Dr. Luke Linhoff, becario postdoctoral del Instituto Smithsonian, regresó a Panamá para continuar y completar los ensayos *in vitro* de las secreciones de la piel ("mucosoma") de las ranas. Como se indicó en informes trimestrales anteriores, los resultados de estas investigaciones sobre las secreciones de la piel de los anfibios pueden tener implicaciones importantes para la liberación exitosa de ranas provenientes de poblaciones en cautiverio.

Adicionalmente, durante este período, realizamos los trámites y obtuvimos el permiso de investigación y colecta emitido por el Ministerio de Ambiente para realizar trabajo de campo en el área de Donoso (Anexo 1), el cual ha sido otorgado por tres años.



Individuo de *Rhinella alata* del experimento piloto sobre los tipos de mesocosmos. Cada individuo era pesado semanalmente para darle seguimiento a su estado de condición corporal.

Objetivo 3. – Realizar expediciones para recolectar ciertas especies de anfibios en riesgo en el área de Donoso.

Durante este período nosotros no realizamos expediciones para recolectar individuos. Como se indicó en informes anteriores, *Gastrotheca cornuta* es una Especie de Interés (EdI), de la cual se requieren más individuos fundadores para establecer adecuadamente una población ex situ en Gamboa. Esperamos realizar una expedición al sitio 4CS6 o a sitios cercanos a la costa, luego que se reestablezca la normalidad en nuestras operaciones.

Objetivo 4. - Estudio de los hongos patógenos de anfibios en la región de Donoso.

Debido a que no realizamos expediciones a Donoso en este trimestre, no obtuvimos muestras de piel para el análisis del hongo patógeno de anfibios, *Batrachochytrium dendrobatidis*.

Anexo 1. Permiso científico de investigación y colecta del proyecto PARC (ARG-109-2021), emitido por el Ministerio de Ambiente.

MINISTERIO DE AMBIENTE
DIRECCIÓN DE ÁREAS PROTEGIDAS Y BIODIVERSIDAD
DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD
SECCIÓN DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS Y BIOLÓGICOS (SARGEB)
PERMISO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS Y/O BIOLÓGICOS

A. DATOS DEL PERMISO

Tipo de Permiso: **Acceso a Recurso Genético**	Número de Solicitud: **0224-2021**	Fecha de validez:
Tipo de Acceso: **Colecta**	Utilización: **Fines Científicos**	Desde: **1 de febrero de 2022**
Tipo de Recurso: **Fauna**	Número de Permiso **ARG-109-2021**	Hasta: **31 de enero de 2025**

B. DATOS DEL SOLICITANTE

Persona Natural / Persona Jurídica: **Roberto Ibáñez Díaz**	No. de Identificación personal / Generales de inscripción: **8-427-685**

Contraparte Nacional que respalda la investigación: **STRI**

Persona Jurídica Internacional:
(Solamente para acceso a recurso genético con fines comerciales)
N/A

C. DATOS DEL PROYECTO

Título del Proyecto: **Rescate y conservación de Anfibios de Panamá**

Objetivo del Proyecto: **Estudiar la diversidad de Anfibios de Panamá, conocer sobre sus amenazas y conservar a las especies amenazadas del país.**

D. RECURSO BIOLÓGICO Y/O GENÉTICO A ACCEDER

NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTÍFICO	CANTIDAD	DESCRIPCIÓN
Ver listado adjunto	-	-	-

Lugar de Estudio
No requiere consentimiento libre informado previo (CLIP)

PN Chagres, PN Darién, PN Omar Torrijos H., PN Soberanía, PN Altos de Campana, RF El Montuoso, RF La Tronosa, PN Cerro Hoya, PI La Amistad, PN Santa Fe, BP Alto Darién, RH Filo del Tallo, PP San Lorenzo, PN Portobelo, AUM Donoso, PNM Isla Bastimentos, PN Volcán Barú, BP Palo Seco.

E. PARTICIPANTES DE LA INVESTIGACIÓN

No.	Nombre	Número de identificación
1	**Ver listado adjunto**	-

Obligaciones que deben cumplir los responsables: A) Portar en todo momento una copia de la resolución correspondiente; B) Los investigadores principales y sus colaboradores deben reportarse a cualquiera de las oficinas del Ministerio de Ambiente más cercana al sitio de estudio antes de iniciar las actividades de campo, con el fin de solicitar la colocación del sello o nombre y firma del funcionario en la copia del permiso; C) Entregar a la Sección de Acceso a Recursos Genéticos (SARGEB) un informe impreso y digital, en español, o la publicación científica con resumen en español, una vez culminada la validez de la resolución. El informe comprenderá, como mínimo, los siguientes puntos: Nombre del titular del permiso, Título del proyecto, Número de permiso, Objetivos, Lugar de estudio, incluyendo coordenadas, Recurso biológico (nombre científico, cantidad, descripción), Resultados preliminares (para renovación de permiso), Resultados finales y/o Artículo científico; D) Entregar la certificación de depósito de muestras, emitida por la Colección Biológica de Referencia reconocidas por el Ministerio de Ambiente. Excepto aquellos casos que no se cuente con una Colección Biológica de Referencia, indicándose en la Resolución respectiva; E) El investigador debe cumplir con las regulaciones particulares del área protegida o privada; F) Los recursos biológicos y genéticos sobrantes de las investigaciones sin fines comerciales quedarán a disposición del Ministerio de Ambiente.

Este permiso es emitido por:

Dirección de Áreas Protegidas y Biodiversidad

Fecha de emisión:
27 de diciembre de 2021

Técnico Evaluador:
Adrián Jiménez

Jefe de Departamento:
Eric Nuñez

SHIRLEY BINDER
Directora de Áreas Protegidas y Biodiversidad

Sello

Apartado C. Zona 0843, Balboa, Ancón, Panamá, Albrook, Calle Diego Domínguez, Edificio 804. www.miambiente.gob.pa

REPÚBLICA DE PANAMÁ | MINISTERIO DE AMBIENTE

DIRECCIÓN DE ÁREAS PROTEGIDAS Y BIODIVERSIDAD
DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD
SECCIÓN DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS Y BIOLÓGICOS (SARGEB)

Continuación del Permiso ARG-109-2021 Página 2 de 2

DATOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

IDENTIFICACIÓN DEL RECURSO A ACCEDER (CONTINUACIÓN)

NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTÍFICO	CANTIDAD	DESCRIPCIÓN
Anfibios	*Amphibia spp*	50 individuos adultos por especie (para programa de conservación ex situ)	Tamaño variable (longitud < 20 cm) no se sacrifican especímenes
Anfibios	*Amphibia spp*	30 renacuajos por especie	Tamaño variable (longitud < 5 cm)
Anfibios	*Amphibia spp*	5 individuos por especie por sitio (para estudios sobre su biología y sistemática)	Tamaño variable (longitud < 20 cm) se sacrificaran un máximo de 5 individuos por sitio
Vertebrados	*Vertebrata spp*	350 frotis de piel	No aplica, no se sacrificaran especímenes
Artrópodos	*Arthropoda spp*	Máximo 300 muestras por sitio	Tamaño variable (longitud < 8 cm)
Algas	*Algae y Cianobacteria spp*	20 muestras por sitio	5-10 gramos por muestra

Elaborado por: [signature] Vobo. Jefe del Departamento:

Continuación del Permiso ARG-109-2021 Página 2 de 2

PARTICIPANTES DE LA INVESTIGACIÓN

No.	Nombre	Número de identificación
1	Jorge Guerrel	8-799-1969
2	Orlando Cáceres	8-887-1856
3	Lanki Cheucarama	5-700-1754
4	Jennifer Warren	8-778-891
5	Nancy Fairchild	3-719-1152
6	Kenia Cabezón	8-916-210
7	Tania Mejía	8-863-2087
8	Estefany Illueca	8-817-4138
9	Amaranto Cabezón	5-712-167
10	Dionel Rodríguez	8-908-913
11	Brian Gratwicke	488599908
12	Carly Muletz Wolz	536043849

Elaborado por: [signature] Vobo. Jefe del Departamento: [signature]

MINISTERIO DE AMBIENTE
Dirección de Áreas Protegidas y Biodiversidad
Departamento de Biodiversidad